1946

# DAGI

DIRECCION DE AGRICULTURA E INDUSTRIAS

PUBLICACIONES TECNICAS

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
MAY 1947

ABEL A. SARASOLA

## DOS ENFERMEDADES SEMEJANTES CAUSADAS POR BOTRYTIS CINEREA Y OVULARIA VICIAE EN LAS ALVERJILLAS FORRAJERAS

(VICIA SPP.)

DICIEMBRE DE 1946

TOMO III - Nº 3

PROVINCIA DE BUENOS AIRES
(R. ARGENTINA)

GOBERNADOR DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES
CORONEL (R.) DOMINGO A. MERCANTE

MINISTRO DE OBRAS PÚBLICAS
Ing. civil RAUL A. MERCANTE

SUBSECRETARIO DEL MINISTERIO DE OBRAS PÚBLICAS
Ing. hidráulico PEDRO R. POGGIO

DIRECTOR DE AGRICULTURA E INDUSTRIAS
ING. AGR. CESAR FERRI

*Inspector General:* Ingeniero agrónomo, Marcelino F. Boerr.
*Secretario técnico:* Ingeniero agrónomo, José J. Vidal.
*Jefe División Administrativa:* Ingeniero agrónomo Modesto A. Wolter.
*Asesor Letrado:* Dr. Alfredo de la Llosa.

## DIVISIONES

*Estaciones Experimentales, Viveros y Parques:* Jefe, Ingeniero agrónomo, José J. Vidal.
*Agronomía:* Jefe, Ingeniero agrónomo, José V. Natta Maglione
*Enseñanza Agrícola:* Jefe, Ingeniero agrónomo, Pedro Mollura.
*Industrias y Comercio:* Jefe, Ingeniero agrónomo, Alberto V. Oitavén.
*Laboratorios:* Jefe, Ingeniero agrónomo, Dr. Luis De Santis.

### ESTACIONES EXPERIMENTALES, VIVEROS Y ESCUELAS AGRÍCOLAS

*Chacra Experimental «Coronel Benito Machado» (ex Chacra de «La Previsión», Barrow, F. C. S.):* Director, Ingeniero agrónomo, Bartolomé Schelotto (h.).
*Estación Agrícola Experimental del Delta (Paraná de las Palmas y Canal 6):* Director, Agrónomo, Enrique R. Amos.
*Instituto de la Papa (Balcarce, F. C. S.):* A cargo del señor Pedro J. Issouribehere.
*Vivero Experimental «Carlos Spegazzini» (Patagones, F. C. S.):* Director Interino, Ing. Agr. Bartolomé Schelotto.
*Vivero y Arboretum (Tablada, F. C. S.):* A cargo del Agrónomo, Miguel A. Bianchi
*Vivero «Eduardo L. Holmberg» (Cazón, F. C. S.):* A cargo del Agrónomo, Juan F. Quinteros.
*Vivero «Angel Gallardo» (Baradero, F. C. C. A.):* A cargo del Ingeniero agrónomo, Ruben W Angelaccio.
*Vivero Cristóbal «M. Hicken» (C. Dorrego, F. C. S.):* A cargo del Agrónomo José M. Bustos.
*Establecimiento Dunícola «Florentino Ameghino» (Miramar, F. C. S.):* A cargo interinamente del Ingeniero agrónomo, Mario Lasalle.
*Escuela de Fruticultura "Osvaldo Magnasco" (Dolores, F. C. S.):* Director, Ingeniero agrónomo, Elvio Báncora.

Sección Publicaciones: A cargo de la División Enseñanza Agrícola.

**Se ruega canje:** DIRECCION DE AGRICULTURA E INDUSTRIAS.
PASAJE ROCHA. — LA PLATA (R. ARGENTINA).

PROVINCIA DE BUENOS AIRES
MINISTERIO DE OBRAS PUBLICAS

DIRECCION DE AGRICULTURA E INDUSTRIAS

PASAJE DARDO ROCHA - LA PLATA (Rep. Argentina)

# DAGI

PUBLICACIONES TECNICAS

# Dos Enfermedades Semejantes Causadas por Botrytis Cinerea y Ovularia Viciae en las Alverjillas Forrajeras (VICIA SPP).

Por el Ing. Agr.
ABEL A. SARASOLA

DICIEMBRE DE 1946
TOMO III — Nº 3

TALLER DE IMPRESIONES OFICIALES
LA PLATA — AÑO 1946

# SUMARIO


Pág.

Dos enfermedades semejantes causadas por *Botrytis cinerea* y *Ovularia Vicia* en las alverjillas forrajeras (*Vicia SPP.*) ..... 3

Introducción ..... 3

Antecedentes y distribución geográfica ..... 4

Sintomatología y nombre común ..... 4

Organismos causantes ..... 5

Control ..... 10

Resumen ..... 10

Bibliografía ..... 12

# DOS ENFERMEDADES SEMEJANTES CAUSADAS POR BOTRYTIS CINEREA Y OVULARIA VICIAE EN LAS ALVERJILLAS FORRAJERAS (Vicia SPP.) *

Por el Ing. Agr. ABEL A. SAKASOLA
Encargado del Laboratorio de Fitopatología
de la División Laboratorios

## INTRODUCCION

En el transcurso de una visita efectuada al Semillero Nacional de La Estanzuela (República Oriental del Uruguay) a fines del invierno de 1944, fuimos informados por el técnico del establecimiento, Ingeniero Agrónomo D. T. HENRY, acerca de la presencia en los cultivos experimentales de *Vicia*, de una nueva enfermedad para la zona, que había adquirido mayor gravedad sobre *V. benghalensis*, precisamente una de las especies en que se cifraban las mejores esperanzas para la solución del problema forrajero invernal del vecino país. El examen posterior del material de estudio recogido, nos permitió establecer que se trataba de una enfermedad recientemente descripta por WEIMER (7) en Estados Unidos de Norte América bajo el nombre de «Botrytis leaf spot of vetch» y que es provocada por un hongo perteneciente al grupo de la *Botrytis cinerea* PERS.

Ante tal comprobación revisamos las parcelas cultivadas con especies de *Vicia*, en el Campo Experimental de Forrajicultura de la Facultad de Agronomía de La Plata, en busca del citado mal, observando que en las mismas, se hallaba presente una enfermedad cuyos síntomas correspondían, a grandes rasgos, con la determinada para «La Estanzuela». Las investigaciones practicadas en este caso, nos dieron por resultado el hallazgo de un hongo parásito distinto del anterior y que ha sido clasificado como *Ovularia Viciae* (FRANK) SACC. Debido a que, hasta la fecha, no nos fué posible encontrar una publicación que se refiera en particular al proceso de esta enfermedad y a su diferenciación de la anterior, es que conceptuamos de interés dar a conocer en este trabajo los datos que hemos logrado reunir al respecto.

Si bien es cierto que el cultivo de las especies forrajeras de *Vicia*, no ha alcanzado, en nuestro medio, tanta difusión como para justificar un detenido estudio de esta última enfermedad, merece especial consideración, sin embargo, la autorizada opinión del profesor BURKART (1, p. 815) referente a las posibilidades que ofrecen estos cultivos para el futuro forrajero de la Argentina; el citado autor dice que «*Vicia sativa*, *V. villosa* y *V. benghalensis* son de mucho

(*) Trabajo realizado en los laboratorios de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de La Plata y de la Dirección de Agricultura e Industrias de la Provincia de Buenos Aires; constituye el primer trabajo de adscripción presentado por el autor a la Cátedra de Fitopatología de dicha Facultad. Fué comunicado el día 22 de agosto de 1946 en la Primera Reunión de Comunicaciones organizada por la Sociedad Argentina de Botánica.

(1) BURKART, A., 1943. *Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas*, 590 pp. Acme Agency, Buenos Aires.

porvenir como cultivos invernales en gran parte del país»; asimismo COVAS (2) asigna, a esta última especie, promisorias perspectivas para los mismos fines, en la zona de regadío de la provincia de Mendoza.

## ANTECEDENTES Y DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Las referencias existentes sobre ataques del hongo *B. cinerea*, a las alverjillas forrajeras, son escasas; entre ellas, deben mencionarse, en primer término, los estudios citados de WEIMER que ponen en evidencia esta enfermedad en los estados de Florida y Georgia (EE. UU.) sobre diversas especies, y los de WILSON (8) que demuestran que ese parásito es el causante de un mal semejante, en Inglaterra. En Georgia (1) ha adquirido particular importancia sobre *V. grandiflora* SCOP. El presente trabajo incluye una nueva cita que, como ya hemos dicho, es la vecina República del Uruguay. Además, merece ser incluída aquí la determinación de un hongo del género *Botrytis*, aunque probablemente *B. fabae*, sobre *V. sativa*, efectuada por NATTRASS (3) para la isla de Chipre. Estudios recientes hechos por YU (9) incluyen también a este huésped entre los susceptibles a *B. fabae*, cuyo ataque se manifiesta, como en nuestro caso, por la aparición de pequeñas manchas rojas; igualmente, RODRÍGUEZ SARDIÑA (5) había logrado con anterioridad infectar con este último parásito la especie *V. cracca*.

En las observaciones practicadas por nosotros en los cultivos de la Facultad de Agronomía de La Plata, encontramos sobre algunas plantas de *V. sativa*, que ya habían llegado al final de su período vegetativo, unos pocos tallos invadidos en grandes extensiones por una *Botrytis* pero que, de ninguna manera, reproducía la sintomatología observada en Uruguay y que describimos en el capítulo respectivo. Por otra parte, los intentos para aislar dicho organismo de pequeñas puntuaciones pardas que aparecían en algunas plantas, dieron siempre resultados negativos, por cuya causa atribuímos ese fenómeno al estado decadente en que se hallaban las mismas; además, durante todo su ciclo evolutivo no habían presentado daño alguno, hasta después de la fructificación.

En cuanto a *O. Viciae*, las únicas citas que hemos encontrado en la bibliografía extranjera, la mencionan sobre *V. cassubica* y *V. tenuifolia* en Dinamarca y Alemania. En la Argentina ha sido señalada por CARRERA *et al.* (2, p. 31) sobre *V. villosa*. Según una información proporcionada por el profesor ingeniero agrónomo J. B. MARCHIONATTO, tal determinación le corresponde y fué realizada en el año 1941, sobre material coleccionado en el mismo campo de cultivos en que posteriormente lo hiciéramos nosotros.

## SINTOMATOLOGIA Y NOMBRE COMUN

En todos los ejemplares que hemos tenido oportunidad de examinar, parasitados por estos hongos, ya sea en la naturaleza o infectados artificialmente, notamos síntomas de ataque en las hojuelas, pecíolos, tallos y zarcillos (Figs. 1, a y 2, b, c, d), pero nunca sobre las flores y vainas. En las hojuelas de las plantas dañadas por *B. cinerea*, se manifiestan manchas circulares, oblongas o algo irregulares, cuyos diámetros llegan, a veces, hasta 2 ó 3 mm. en las de mayor tamaño; generalmente dominan las más reducidas entre ½ y 1 mm., siendo muy numerosas en ataques foliares intensos. Son de coloración pardo-rojiza, en algunos casos rodeadas con una estrecha aureola amar llenta. Más avanzada la enfermedad, las hojuelas se tornan cloróticas y caen en gran pro-

(2) *Fide* BURKART (*op. cit.* p. 389).

porción dejando las plantas defoliadas en su parte inferior. Las lesiones sobre los tallos, pecíolos y zarcillos son de aspecto semejante a las descriptas para las hojuelas, pero su forma es más alargada (hasta 4 ó 5 mm.) llegando a formar pequeñas estrías longitudinales o a circundar esos órganos, provocando la muerte de las porciones distales de los zarcillos y pecíolos, cuando se hacen confluentes. Debemos destacar que los cultivos de alverjillas examinados en Uruguay aún no habían fructificado y que las inoculaciones practicadas por nosotros fueron hechas antes de ese período, motivos que nos inducen a tomar con ciertas reservas la resistencia de los frutos a los ataques de la *Botrytis* en estudio. WEIMER *(op. cit.)* no menciona que la enfermedad los afecte, pero en cambio NATTRASS *(op. cit.)* ha aislado, la *Botrytis* sp. ya indicada, de lesiones de color pardo producidas sobre las vainas de *V. sativa*.

En lo que se refiere a *O. Viciae*, los cultivos de alverjillas observados han permanecido siempre con las flores y frutos sanos. Por el contrario, las hojuelas, pecíolos y zarcillos presentan manchas (Figs. 1, b, c, y 2, a, b,) que son muy semejantes a las descriptas con anterioridad diferenciándose en las hojas por su tamaño, que suele alcanzar diámetros mayores, hasta 4 mm., siendo comúnmente de 1 a 3 mm.; por el color de su porción central que es uniformemente pardo o castaño oscuro, por su margen borroso y no bien definido y por la aureola amarillenta más extensa que se forma casi invariablemente en las lesiones de mayor tamaño. Los tallos, pecíolos y zarcillos manifiestan, también, lesiones parecidas a las que se observan en la enfermedad anterior, pero abarcan mayores extensiones, llegando, a veces, a cubrir zonas amplias. Pero no son éstas, por cierto, las diferencias más notables que ofrece la sintomatología de ambos males; todas las manchas producidas por *O. Viciae* aparecen recubiertas, particularmente en tiempo húmedo, con una eflorescencia blanca, como si hubieran sido espolvoreadas con finos gránulos de color blanco, y que está compuesta por los hacecillos de conidióforos y abundantes conidios del parásito. Es importante hacer notar que dicho signo, no aparece en forma perceptible en el haz de las hojuelas, notándose por el contrario en el envés en correspondencia con las manchas. En este caso, también se produce una marcada defoliación que comienza en la parte inferior de las plantas, donde el ataque es siempre de mayor intensidad. Igualmente los tallos presentan a esa altura, zonas extensas completamente necrosadas que, en casos graves, provocan el vuelco y la muerte del resto de la planta.

Las diferencias de coloración apuntadas, que caracterizan los síntomas de ambas enfermedades, permiten una individualización fácil de cada una de ellas. Consignamos esas divergencias en los nombres vulgares que adoptamos en este trabajo y que son los siguientes: «mancha pardo-rojiza de las alverjillas» con el que destacamos el matiz que se observa con mayor frecuencia en las lesiones producidas por *B. cinerea* y «mancha castaño-harinosa de las alverjillas», nombre que referimos a las puntuaciones blancas presentes en el envés de las manchas de fondo color castaño, que aparecen en las hojuelas y sobre todas las lesiones producidas por *O. Viciae* en los restantes órganos aéreos de las plantas; esto último constituye un signo diferencial de importancia primaria.

## ORGANISMOS CAUSANTES

*Taxonomía y morfología.*

Las dos enfermedades descriptas son producidas por sendos hongos morfológicamente distintos cuya ubicación sistemática corresponde a los géneros *Botrytis* y *Ovularia*. El parásito causante de la mancha pardo-rojiza tiene micelio grisáceo a simple vista, pero bajo el microscopio puede observarse que sus

hifas vegetativas son hialinas o pardas, algo contraídas frente a los tabiques, en determinados casos. Las hifas fértiles o conidióforos, son de color pardo más intenso, matiz que en algunos, va palideciendo hacia la extremidad mostrando, a veces, un reticulado característico de su contenido, como se puede notar en la figura 4, a. Estos conidióforos pueden ser simples o ramificados, produciendo en su trayectoria o en su extremidad grandes cantidades de conidios que se originan en esterigmas cortos (Fig. 4, b, c). Estos esporos son elípticos, ovales o piriformes (Fig. 4, a, b, c,) y miden, tomados directamente de material enfermo, 6, 3 - 12,7 x 6,3 - 14,0 μ (promedio 7,3 x 9,4 μ ).

En medios de cultivos observamos abundante producción de microconidios en los primeros aislamientos practicados, pero en los repiques sucesivos con material de las mismas colonias, no volvió a manifestarse ese tipo de esporos. También se formaron esclerotos de forma aproximadamente redonda o elíptica cuyos diámetros mayores alcanzaron dimensiones entre 1 y 5 mm. En los meses de invierno, observamos pequeñas gútulas elevadas sobre la superficie de algunos de estos órganos de resistencia, que parecían así, en trance de producir su forma perfecta, pero ese estado quedó estacionario no dando lugar a ningún cuerpo fructífero. Por el contrario, en la mayor parte de los casos, germinaron produciendo gran número de conidióforos y conidios, de color pardo.

Dada la similitud de algunos de estos caracteres con los observados por WEIMER *(op. cit.* p. 248) nos decidimos a incluir el parásito estudiado por nosotros, dentro de la misma clasificación adoptada por ese autor, no obstante que advertimos pequeñas diferencias morfológicas y de comportamiento, según diremos más adelante, que sugieren se trate de otra forma perteneciente al grupo de la *B. cinerea.*

Por otra parte, el microorganismo agente de la mancha castaño-harinosa posee hifas vegetativas hialinas o pardas y tabicadas, que emiten conidióforos también hialinos, flexuosos, simples, denticulados en su mitad superior, llevando cada dentículo una cicatriz oscura, dejada por los conidios al desprenderse (Fig. 5, a, b,) ; el número de cicatrices en cada hifa fértil varía entre 1 y 9 siendo más numerosos los casos con 5 a 8. Esos conidióforos emergen en hacecillos que los llevan en gran número; tienen de 0 a 3 tabiques y miden 3,8-5,1 x 71,4 - 198,9 μ es decir, que son relativamente largos; además su disposición es anfígena (en cámara húmeda) dominando notablemente en el envés de las hojuelas. Los conidios (Fig. 5, c) son hialinos, esféricos a subesféricos, papilados en su porción basal, monocelulares y se desprenden fácilmente de los conidióforos, con excepción de los terminales que suelen ser observados en esa posición, con frecuencia, al estado joven (Fig. 5, a, b). Las dimensiones obtenidas de material tomado de *V. benghalensis* variaron entre 7,6-14,0 x 8,9-15,3 μ.

Se citan en la bibliografía, por lo menos, cinco especies de *Ovularia* sobre el género *Vicia*, pero la mayor parte de las características que hemos dado son propias de la especie *O. Viciae*. No resulta tarea fácil decidir la ubicación específica que consignamos, debido a que algunas de las descripciones originales correspondientes son demasiado sintéticas. No obstante, del análisis de las mismas se desprende que *O. Viciae* (4, Vol. x p. 542) se diferencia de *O. Villiana* P. MAGN. (4, Vol. XVI p. 1035) y *O. fallax* (BON.) SACC. (4, Vol. IV p. 141) porque éstas tienen conidióforos y micelio externo respectivamente, ramificados; además, hay otras divergencias de orden morfológico que son de menor significación. *O. Schwarziana* P. MAGN. (4, Vol. XVI p. 1035) tiene conidióforos rectos, carácter del que no participa nuestra especie. De *O. sphaeroidea* SACC. (4, Vol. IV p. 140) se distingue fundamentalmente, porque ésta tiene conidióforos y conidios hipófilos y de menor tamaño; además, ha sido citada sobre *V. sativa*

(5, p. 104) que es justamente refractaria al microorganismo estudiado por nosotros.

*Pruebas de patogenicidad.*

Utilizando ambos parásitos efectuamos, a fines de octubre de 1944, infecciones artificiales, por aspersión de esporos en ambiente de laboratorio, sobre los cinco huéspedes siguientes: alverjilla de Bengala (*V. benghalensis* L.), alverjilla velluda (*V. villosa* ROTH.), alverjilla común (*V. sativa* L.), haba (*V. faba* L.) y lupino (*Lupinus* sp.). Dejamos, durante dos días y medio las plantas tratadas con sus correspondientes testigos pulverizados con agua estéril, en cámaras húmedas confeccionadas con campanas de vidrio; después de este lapso llevamos las macetas al invernáculo. Los cultivos de *O. Viciae* empleados tenían 18 días y los de *B. cinerea* 53, edad poco recomendable por cierto, para experiencias como la presente; sin embargo habíamos ensayado su viabilidad mediante germinación de esporos entre cubre y portaobjetos colocados en cámara húmeda, con resultado positivo. No obstante ello, las infecciones fueron negativas en todos los casos, fenómeno que atribuíamos, más que a la edad del inóculo, al ambiente poco propicio creado por las temperaturas elevadas reinantes, ya que esas enfermedades cunden en la naturaleza en pleno invierno y cuando las temperaturas son bajas.

Teniendo en cuenta estos resultados, insistimos en la época que consideramos más oportuna y en invernáculo, incorporando a los cinco huéspedes mencionados con anterioridad, la babichuela (*V. faba* L. *subspec. minor* ALEF.). El día 11 de junio de 1945 utilizando cultivos de *O. Viciae* y de *B. cinerea*, en agar de papa glucosado al 2 %, que para entonces tenían 13 días, inoculamos las seis especies citadas, haciendo un ensayo previo de germinación de esporos con resultado positivo, como había ocurrido en el caso anterior. Las macetas con habas, habichuelas y lupinos, contenían entre 4 y 6 plantas cada una, mientras que las sembradas con alverjillas tenían entre 15 y 20 individuos. El diámetro de aquellas era de 20 centímetros y cultivamos en total 30, de las cuales 12 (2 de cada huésped) fueron inoculadas con *O. Viciae*, otras 12 infectadas con *B. cinerea* y las 6 restantes que también llevaban los huéspedes utilizados, fueron dejadas como testigos.

El inóculo empleado consistía en una suspensión de esporos en agua estéril y, en otros casos, en trocitos de cultivos aplicados directamente sobre el huésped. Los testigos fueron tratados en idéntica forma pero utilizando, solamente, agua o agar de papa glucosado estériles. Durante las 48 horas siguientes pulverizamos, en varias oportunidades, todas las plantas con agua estéril para favorecer la germinación de los esporos y, por consecuencia, la infección. Luego comenzamos a observar periódicamente el material tratado notando que al mes, aproximadamente, aparecían las primeras manifestaciones de la mancha castaño-harinosa y, pocos días más tarde, las de la mancha pardo-rojiza.

*B. cinerea* dió resultados positivos, produciendo lesiones características en *V. benghalensis* (Fig. 2, e), *V. sativa* (Fig. 2, c), *V. villosa* (Fig. 2, d), *V. faba* (Fig. 3, a) y *V. faba minor* (Fig. 3, b), siendo negativas únicamente en lupino. Por su parte *O. Viciae* reprodujo la enfermedad en *V. benghalensis* (Fig. 2, a) y *V. villosa* (Fig. 2, b) solamente, dando resultado negativo sobre los demás huéspedes inoculados; los testigos permanecieron completamente sanos.

Las lesiones producidas por *O. Viciae* se presentaban, como en la naturaleza, cubiertas de fructificaciones blancas, motivo que facilitó grandemente su identificación y su reaislamiento en medios artificiales. Por el contrario, esta faz de nuestra experiencia, resultó más engorrosa con *B. cinerea;* tomábamos, en

este caso, las hojuelas con manchitas rojizas, las humedecíamos durante ½ a 1 minuto en alcohol de 70 grados, luego las llevábamos a una solución de bicloruro de mercurio al 2 por mil durante el mismo tiempo y las lavábamos abundantemente con agua estéril utilizando, en síntesis, la misma técnica que habíamos empleado para los aislamientos originales. Hecho esto, cortábamos las hojuelas teniendo cuidado de seccionar las manchas por su parte media y colocábamos los trocitos así obtenidos en agar de papa glucosado. En varios casos conseguimos reaislar el parásito y reconocerlo por sus características morfológicas y culturales.

Las mediciones efectuadas en dos oportunidades de los conidios producidos en otros tantos reaislamientos dieron las dimensiones siguientes: 7,4 - 11,1 x 8,3 - 14,8 μ y 8,9 - 11,2 x 10,2-19,1 μ que son, prácticamente, iguales a las obtenidas del material infectado naturalmente, recogido en la Estanzuela (6,3 - 12,7 x 6,3 - 14,0 μ ) y a las proporcionadas por los primeros aislamientos efectuados de dicho material, que dieron 5,1 - 10,2 x 6,3 - 16,5 μ . No obstante, otro de los reaislamientos produjo cifras dispares con las apuntadas, 7,4 - 12,0 x 12,0 - 24,0 μ las cuales encuadran mejor dentro de los términos obtenidos por WEIMER *(op. cit.)* que son 8,4 - 15,8 x 13,7 - 25,2 μ . Otro dato interesante es, que los cultivos reaislados no produjeron esclerotos típicos sino pequeñas costras superficiales, siendo en otros aspectos coincidentes con la mayor parte de los aislados del material uruguayo; sin embargo, algunos de estos últimos eran semejantes a los reaislados de plantas infectadas artificialmente.

También discrepan estos resultados, comparados con los obtenidos por el autor que acabamos de citar, en el tiempo de incubación de la enfermedad, pero debemos tener presente que hemos utilizado condiciones ambientales distintas y que seguramente hemos trabajado con formas diferentes del parásito. Esta última hipótesis se robustece al comprobar que nosotros hemos obtenido material infectado de *V. benghalensis (V. atrôpurpurea* DESF.) y de *V. villosa*, especies ambas que resultaron resistentes frente al material patógeno empleado por WEIMER.

Después de un mes de realizadas nuestras observaciones notamos que los cultivos de malvón *(Pelargonium* sp.) y tabaco *(Nicotiana Tabacum* LINN.) existentes en el invernáculo que utilizamos, y que también fueron alcanzados por las pulverizaciones de la suspensión patógena aplicada, presentaban ataques y gran número de fructificaciones de una especie de *Botrytis*, cuyos caracteres morfológicos coincidían con los de la que inoculamos; más tarde, fuimos informados que el año anterior habían existido allí, habas atacadas por un hongo de ese género. Al finalizar el ciclo vegetativo de todas las plantas utilizadas en nuestros ensayos, inclusive los lupinos, fueron atacados con diversas intensidades, por dicho hongo, produciéndose grandes lesiones cubiertas de fructificación que abarcaban extensas porciones de los tallos y del follaje, y que diferían completamente de las reproducidas un mes antes, con el parásito aislado por nosotros.

Ante todas estas dificultades y la necesidad de poder controlar mejor nuestros ensayos, en el invierno de 1946, intentamos inocular plantas cultivadas en medio aséptico, obteniendo un franco éxito.

El método seguido [1] para producir plantas libres de todo microorganismo y aisladas del medio exterior contaminado fué similar, en parte, a otros ya aconsejados por algunos autores para trabajar con bacterias radicícolas y para ensayar ciertos hongos fitopatógenos. Utilizamos tubos de ensayo de 20 cms. de

---

[1] Véase SARASOLA, A. A. 1946. *Un método práctico para el cultivo aséptico de plantas.* Bol. Soc. Arg. Bot. 1 (4): 303 - 311, publicado mientras se hallaba en prensa el presente trabajo.

largo y boca de 2,5 cms. con una abertura a 6 ó 7 centímetros a partir de la base, confeccionada mediante el calentamiento a esa altura con mechero de Bunsen y, soplando luego por la boca del tubo, hasta provocar el estallido del mismo. Luego colocamos en su parte inferior e interior, un trozo de algodón empapado en agua de canilla, cuidando dejar un espacio libre entre éste y las paredes circundantes, que rellenamos con tierra de jardín hasta una altura aproximada de 5 cms. a partir de la base.

Seguidamente, tapamos las aberturas superior y lateral con trozos de algodón esponjado como para permitir una aireación conveniente, esterilizando todo en autoclave, a una atmósfera, durante una hora. Por separado desinfectamos las semillas un minuto en alcohol y cinco en bicloruro de mercurio y, previo lavado con agua estéril, efectuamos la siembra colocándolas, observando las condiciones de asepsia comunes en esta clase de trabajos, sobre la tierra esterilizada contenida en los tubos. Al germinar éstas, las plantitas fueron mantenidas en el laboratorio, plenas de vigor, utilizando luz artificial durante diez horas diarias y a temperaturas que oscilaron entre 15 y 18 grados C. No hubo necesidad de aplicar riegos complementarios por cuanto la tierra permaneció en buenas condiciones de humedad mientras duró la experiencia.

Cultivamos así, *V. benghalensis*, *V. sativa*, *V. villosa*, y *V. faba minor*, inoculándolas con una suspensión de esporos de un cultivo de la *B. cinerea* aislada del material uruguayo, mediante un pulverizador convenientemente desinfectado.

A los cinco días notamos pequeñas manchitas pardo-rojizas, en los tres primeros huéspedes, que se hicieron más notables a partir de los 14 días. En cambio, en *V. faba minor*, al segundo día, ya podían observarse las típicas lesiones. Estos ensayos nos demostraron también, que el mismo hongo es capaz de producir, tanto las manchas típicas descriptas, como abarcar extensas porciones de los tallos y hojas, produciendo sobre las mismas gran número de fructificaciones.

Esta última sintomatología se produce en las plantas u órganos que denotan signos de mayor debilidad, confirmando nuestras presunciones expuestas al referirnos más arriba a un ataque de *Botrytis* hallado en el campo Experimental de la Facultad de Agronomía y a lo ocurrido en nuestro invernáculo, una vez llegadas las plantas al final de su período vegetativo.

También pudo apreciarse mediante este método que *B. cinerea* fructifica profusamente en la tierra y que es capaz de invernar en el terreno bajo su forma de reproducción asexual.

Del mismo modo resultó evidente que la humedad en exceso es un factor importante para que se produzca la infección. Las hojas y tallos que permanecían en contacto con las paredes de los tubos, mojadas interiormente por el agua de condensación, resultaron los primeros órganos que fueron invariablemente atacados.

En esta forma hemos podido confirmar que el fracaso de nuestros ensayos vernales en ambiente de laboratorio y las diferencias obtenidas en cuanto al período de incubación de este parásito han sido debidas, principalmente, a las condiciones ambientales empleadas en cada caso.

*Desarrollo cultural.*

En agar de papa glucosado al 2 %, *B. cinerea* produjo colonias color blanco-grisáceas, con abundante micelio aéreo, que en pocos días cubría la superficie del medio en tubos inclinados y a temperaturas de 23 - 24 grados C. Más tarde, aparecían esclerotos que eran al principio blancos y, a la madurez, negros; finalmente sobre algunos de estos cuerpos de resistencia. y en las partes menos

profundas del medio, se observaba una coloración castaño-grisácea producida por la abundante formación de conidióforos y conicios que, vistos bajo el microscopio, eran pardos o hialinos. En sucesivos transplantes algunas colonias perdían la propiedad de fructificar permaneciendo estériles; otras, que en los primeros repiques producían abundantes esclerotos de forma típica, y poco micelio aéreo, invertían estas características formando gran cantidad de micelio de aspecto algodonoso y pocos esclerotos, en forma de costras superficiales.

Por su parte, *O. Viciae* en el mismo medio, manifestó un desarrollo sumamente lento, de aspecto afelpado, convexo, de color blanco o grisáceo superficialmente y de perímetro circular. Todas las colonias esporulaban profusamente y su diámetro, en tubos inclinados, llegó a 1 centímetro como máximo. El micelio sumergido en la matriz era de color pardo, tomando, por consecuencia, esa tonalidad las colonias vistas por su parte inferior.

Efectuamos, también, cultivos en tubos con tierra de jardín esterilizada, utilizando una suspensión de esporos de este parásito, comprobando que desarrolla y fructifica perfectamente bien en ese substrato. Ello permite suponer que es capaz de invernar en el terreno a la espera de una nueva siembra de sus huéspedes predilectos.

En ninguno de estos ensayos observamos producción de la forma sexual de los parásitos en estudio.

## CONTROL

En caso necesario, los procedimientos de lucha contra la mancha pardo-rojiza, deben fundarse en la utilización de variedades resistentes a las formas del parásito comunes en cada región, y en la rotación con especies no suceptibles, ya que se trata de un hongo capaz de permanecer en el terreno de un año al otro.

Respecto a la mancha castaño-harinosa nuestras observaciones han permitido comprobar que *V. sativa* se ha comportado como muy resistente, en infecciones artificiales, a la muestra de *O. Viciae* tomada de las alverjillas del Campo Experimental de la Facultad de Agronomía de La Plata. Por otra parte, las parcelas de *V. benghalensis* y *V. villosa* allí cultivadas fueron seriamente atacadas durante los inviernos de 1944, 1945 y 1946, que son los años en que las examinamos, mientras *V. sativa*, sembrada en ese mismo ambiente infectado, permaneció siempre, completamente libre de la enfermedad. Desde que no hemos visto lesiones en las vainas resulta problemático que la infección se transmita por semilla, siendo más aceptable, de acuerdo a lo dicho más arriba, que este microorganismo permanezca en el terreno y en los residuos vegetales atacados, y caídos en el suelo, para reiniciar su ciclo parasitario al año siguiente; por estos motivos sería indicada, también en este caso, la rotación con especies que, como *V. sativa*, no parecen susceptibles.

## RESUMEN

Se estudian comparativamente dos enfermedades semejantes de las *Vicia* spp.; una, producida por *Botrytis cinerea*, en material recogido en La Estanzuela (Uruguay) y la otra, causada por *Ovularia Viciae*, en material coleccionado en La Plata (Argentina). Después de analizarse los antecedentes respectivos e indicarse la distribución geográfica se establece que *B. cinerea* produce en las hojas manchas pardo-rojizas, circulares, oblongas o irregulares, hasta de 3 mm. de diámetro, aunque generalmente entre ½ y 1 mm., que provocan una defoliación parcial. En los tallos, pecíolos y zarcillos son más alargadas (4 - 5 mm.) y pueden causar su muerte. *O. Viciae* produce lesiones semejantes que se diferencian de las

anteriores por su mayor tamaño en las hojuelas (1-4 mm.), por su color pardo oscuro, su margen borroso y las puntuaciones blancas que las recubren, constituídas por las fructificaciones del parásito. En los tallos cubren zonas amplias facilitando su encamado y muerte.

En cultivos, *B. cinerea* da micelio grisáceo, hifas vegetativas hialinas o pardas, conidióforos pardos, simples o ramificados que llevan conidios elípticos, ovales o piriformes (6,3-12,7 x 6,3-14,0 μ cuando tomados de material enfermo); también se observó en medios artificiales la formación de microconidios, y esclerotos redondeados o elípticos de 1-5 mm. *O. Viciae* da micelio blanco o grisáceo constituído por hifas vegetativas hialinas y pardas, conidióforos hialinos, flexuosos, simples y denticulados en su mitad superior; llevan en cada dentículo una cicatriz (5-8 en cada conidióforo); estos últimos forman hacecillos sobre las lesiones, miden 3,8-5,1 x 71,4-198,9 μ y tienen 0-3 tabiques. Los conidios son hialinos, esféricos o sub-esféricos, papilados en su porción basal, unicelulares y miden 7,6-14,0 x 8,9-15,3 μ .

En inoculaciones artificiales con *B. cinerea* se obtuvieron resultados positivos sobre *V. benghalensis, V. sativa, V. villosa, V. faba* y *V. faba minor* siendo dudosos en lupino; con *O. Viciae* se reprodujo la enfermedad en *V. benghalensis* y *V. villosa* resultando indemnes los restantes huéspedes citados.

Como control se indica para ambos casos, utilizar variedades resistentes y rotaciones. Además se aconseja emplear *V. sativa*, contra *O. Viciae*, debido a que siempre se ha comportado como muy resistente frente a este parásito.

# BIBLIOGRAFIA CITADA


1. Anónimo. 1944 *Botany*. Rep. Ga. Exp. Sta., 1943 - 44, pp. 53 - 60.

2. Carrera, C. J. M., L. Grodsinsky, L. Halperín y A. M. Offermann. 1942. *Lista de las enfermedades de las plantas constatadas en la República Argentina desde el año 1930 a 1941*. Publ. mimeogr. Seg. Confer. Interamer. Agric., 35 pp. México, D. F.

3. Nattrass, R. M. 1937. *Annual report of Plant Pathologist for the year 1936*. Rep. Dir. Agric. Cyprus, 1936, pp. 50 - 56. (Resumen en R. A. M. XVII: 15).

4. Saccardo, P. A., et al. 1882 - 1931. *Sylloge fungorum*. 25 v. Padua (v. 1 - 22), and Avellino (v. 23 - 25).

5. Sardiña, J. R. 1931. *Dos nuevas enfermedades de las habas*. Bol. Pat. Veg. y Ent. Agric. V, 19 - 22, pp. 59 - 80, 17 figs. (Resumen en R. A. M. XI: 346 - 347).

6. Stevenson, J. A. 1926. *Foreign plant diseases*. U. S. Dept. Agr. Contrib. Fed. Hort. Bd. in collab. with Bur. Plant Indus. 198 pp. Wáshington, D. C.

7. Weimer, J. L. 1944. *Botrytis leaf spot of vetch*. Phytopathology 34, pp. 245 - 249.

8. Wilson, A. R. 1937. *The chocolate spot disease of beans (Vicia faba L.) caused by Botrytis cinerea Pers*. Ann. Appl. Biol., XXIV, 2, pp. 258 - 288, 2 pl., 3 figs. (Resumen en R. A. M. XVI: 723 - 724).

9. Yu, T. F. 1945. *The red - spot disease of broad beans (Vicia faba L.) caused by Botrytis fabae Sardiña in China*. Phytopathology 35: 945 - 954.

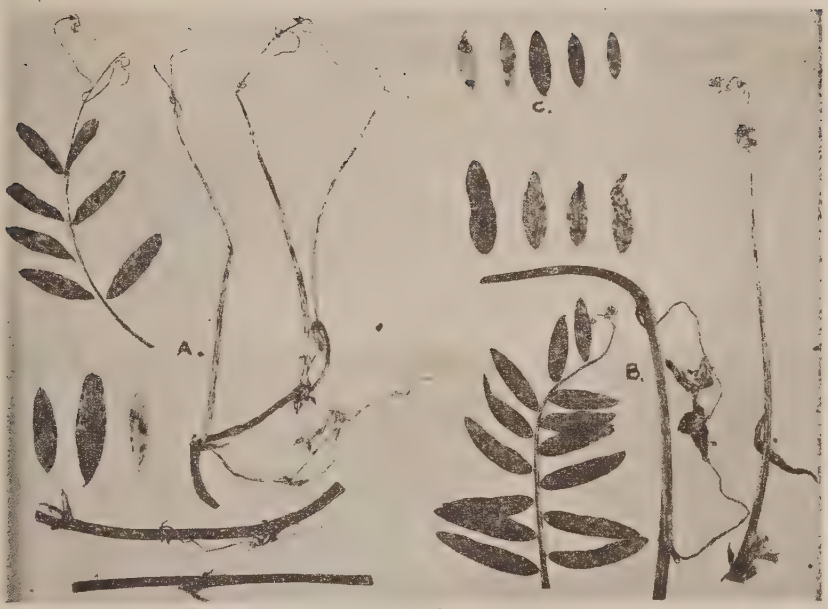


Fig. 1. A) *Vicia benghalensis* recogida en La Estanzuela, mostrando lesiones típicas producidas por *Botrytis cinerea*. B) *V. villosa* coleccionada en La Plata, *con un ataque característico de Ovularia Viciae*. C) *V. benghalensis* parasitada por *O. Viciae* recogida en esta última localidad. x ¾.

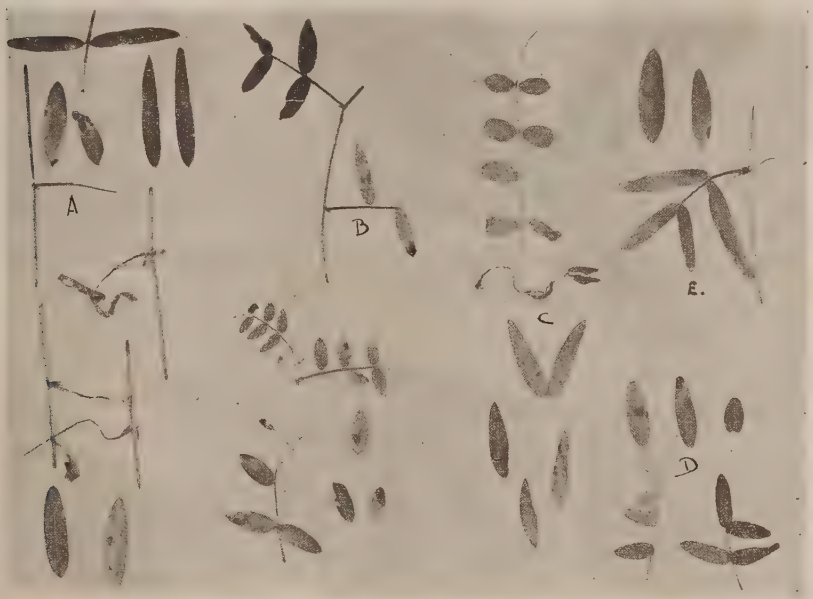


Fig. 2. A) *Vicia benghalensis* inoculada con *Ovularia Viciae*. B) *V. villosa* inoculada con *O. Viciae*. C) *V. sativa* infectada con *Botrytis cinerea*. D) *V. villosa* inoculada con *B. cinerea* y, E) *V. benghalensis* infectada con este último parásito. x ¾.

Fig. 3. A) *Vicia faba* infectada con *Botrytis cinerea* aislada de *V. benghalensis* y, B) *V. faba minor* inoculada con ese mismo parásito. x ¾.

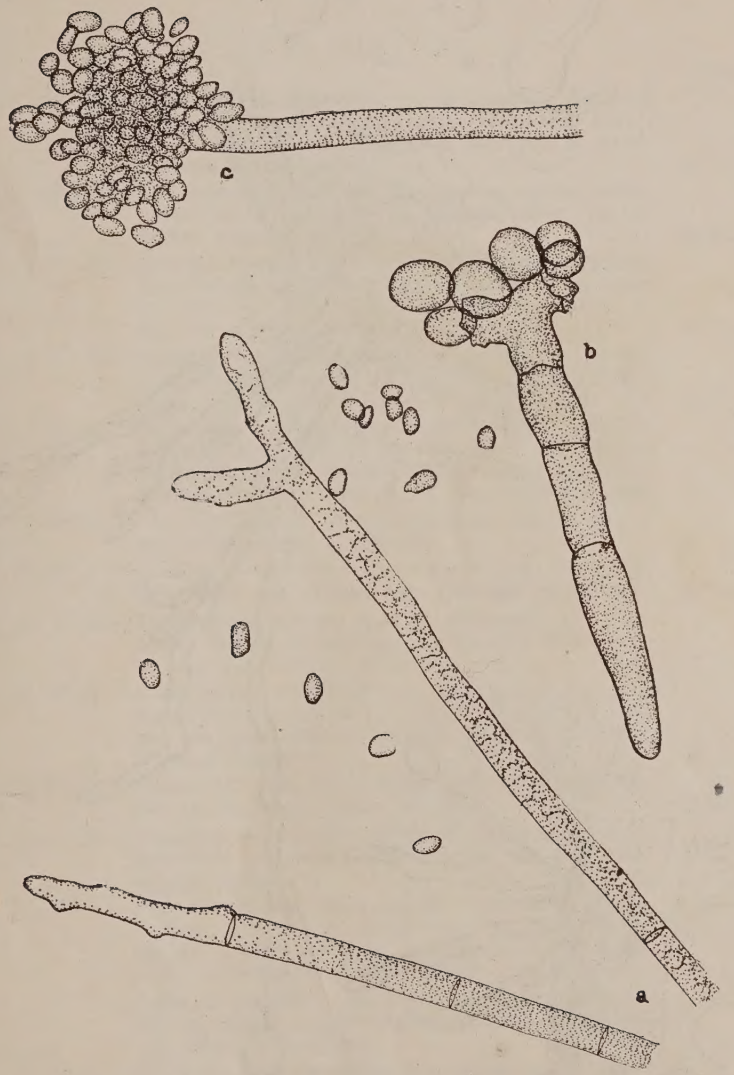


Fig. 4. a) Conidioforos y conidios de *Botrytis cinerea* tomados de un cultivo en agar papa glucosado aislado de *Vicia benghalensis* recogida en el Uruguay, x 430. b) Coniodioforo y conidios tomados de hojas del mismo material, x 780, y c) Disposición de los conidios en el conidióforo, x 430.

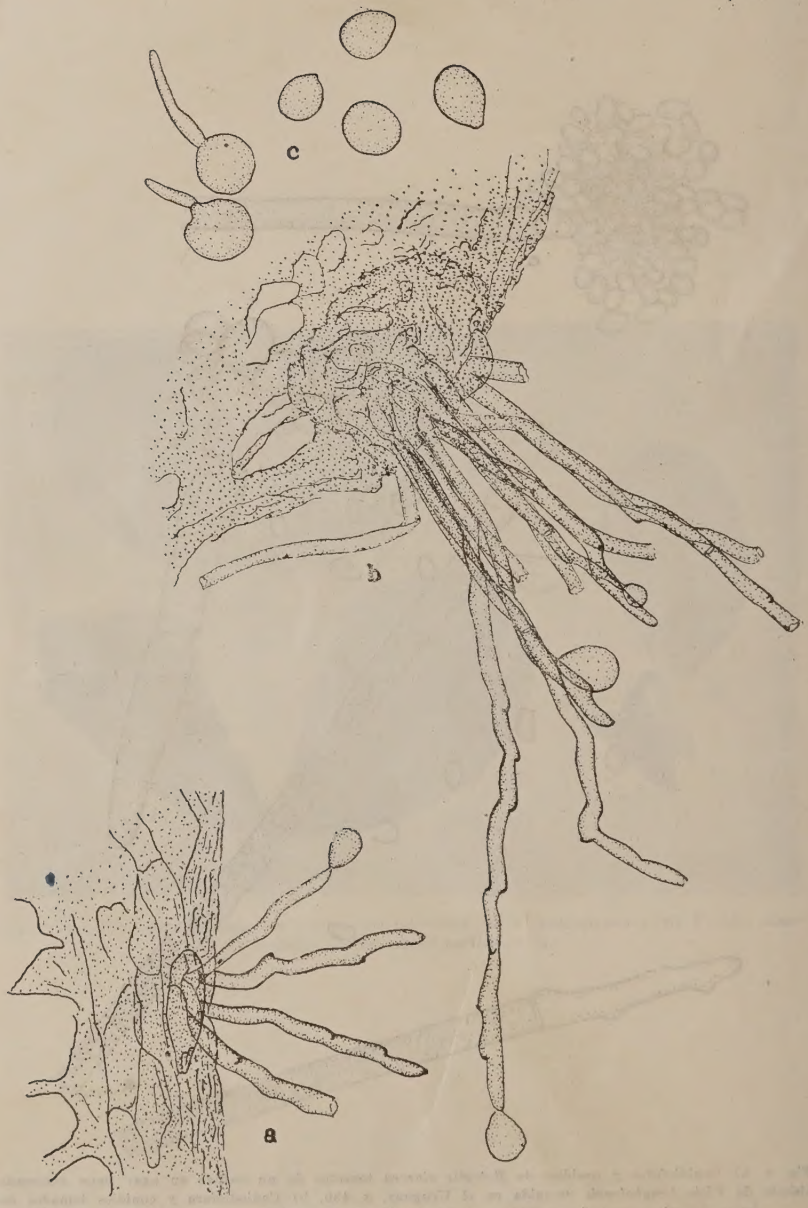


Fig. 5. a) Hacecillo joven de conidióforos de *Ovularia Viciae* en un corte de hoja de *Vicia benghalensis* coleccionada en La Plata. b) Conidióforos típicos del mismo parásito; algunos han sido seccionados al efectuar el corte, y c) Conidios de *O. Viciae*, dos de ellos germinados. x 866.

# DAGI

PUBLICACIONES TECNICAS

## PUBLICADOS

| | | Precio |
|---|---|---|
| Tomo I Nº 1. | Experiencias realizadas en la Estación Agrícola Experimental del Delta (junio 1939-marzo 1941), por los ingenieros agrónomos Enrique R. Amos y Jorge Barañao | $ 1,— |
| Tomo I Nº 2. | Las comunidades vegetales de las dunas costaneras de la provincia de Buenos Aires, por el doctor Angel L. Cabrera | Agotado |
| Tomo I Nº 3. | Estudio biométrico de correlación entre algunas características físico y químicas en la madurez del fruto de perales, manzanos y citrus por el Ing. Agr. Pedro Mollura | $ 1,— |
| Tomo I Nº 4. | Trabajos experimentales con papas (1939-1940, 1940-1941 y 1941-1942),. por el Ing. Agr. Pedro Issouribehere | » 1.— |
| Tomo I Nº 5. | Notas sobre calcidoideos argentinos parásitos de insectos que viven en los frutales y algunos insectos útiles que convendría introducir en la República Argentina, por el Ing. Agr. Luis De Santis | » 1,— |
| Tomo I Nº 6. | Las orquídeas de la provincia de Buenos Aires, por el Dr. Angel L. Cabrera | » 1,— |
| Tomo II Nº 1. | Ensayo comparativo de engorde con forrajeras invernales, por el Ing. Agr. Domingo Arambarri | » 1,,— |
| Tomo II Nº 2. | Observaciones sobre el olivo, efectuadas en el extremo sur de la provincia de Buenos Aires, por el Ing. Agr. Luis U. Papini | » 1,— |
| Tomo II Nº 3. | Experiencias realizadas en la Estación Agrícola Experimental del Delta (abril 1941-julio 1942), por los ingenieros agrónomos Enrique R. Amos y Jorge Barañao | » 1,— |
| Tomo II Nº 4. | Hogar Agrícola. Curso temporario para maestros, por el Ing. Agr. Pedro Mollura | Agotado |
| Tomo II Nº 5. | Ensayos de especies forrajeras invernales en la provincia de Buenos Aires, por el Ing. Agr. Domingo Arambarri | » 1,— |
| Tomo II Nº 6. | Una enfermedad poco común de nuestras cucurbitáceas cultivadas por el Ing. Agr. Abel A. Sarasola, y Nota sobre un curculionoideo «picudo» poco conocido, por el Ing. Agr. Dr. Luis De Santis | » 1,— |
| Tomo II Nº 7. | Algunos jazmines cultivados en la provincia de Buenos Aires y en la Capital Federal, por el doctor Angel L. Cabrera | » 1,— |
| Tomo II Nº 8. | Trabajos experimentales con papas (años 1942-1943), por el Ing. Agr. Pedro J. Issouribehere | » 1,— |
| Tomo III Nº 1. | Apuntes sobre la vegetación de Pellegrini, por el doctor Angel L. Cabrera | » 2,— |
| Tomo III Nº 2. | Trabajos experimentales con papas (años 1943-1944), por el Ing. Agr. Pedro J. Issouribehere | » 1,— |

Esta publicación registrada bajo el Nº 279, editada por la División Enseñanza Agrícola (Sección Publicaciones) de la Dirección de Agricultura e Industrias, fué impresa por el Taller de Impresiones Oficiales de la Prov. de Buenos Aires.

1.000 — Diciembre 31 — Año 1946

279

CONTADURIA DE LA PROVINCIA

$ 1 EL EJEMPLAR

Nº29